

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal

Print version ISSN 1981 – 2965 / DOI 10.5935

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 06, n. 2, p. 65-76, jul-dez, 2012

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20120007>

Artigo Científico
Zootecnia / Recursos Pesqueiros

Efeito de sucessivos tratamentos superovulatórios com pFSH sobre a resposta ovulatória e produção de embriões de cabras Boer e posterior sobrevivência embrionária após transferência em receptoras sem raça definida

Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros¹; Alexandre Weick Uchoa

Monteiro²; André Luiz Nogueira Medeiros³; Vicente José de Figueredo Freitas⁴

Maria Gorete Flores Salles⁴; Airton Alencar Araújo⁴

Resumo: Este trabalho avaliou o efeito de sucessivas superovulações com pFSH na produção de embriões em caprinos da raça Boer. Foram utilizadas 5 doadoras raça Boer, pluríparas. A média das ovulações variou de 9,8 a 0,8, apresentando diferença significativa a partir do terceiro tratamento, mostrando que a repetição da superovulação afeta a resposta ovariana. A diminuição da resposta superovulatória foi proporcional à produção de embriões. No entanto, o efeito da repetição da superovulação e a avaliação morfológica dos embriões colhidos desaparecem, não tendo diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária e sobrevivência ao parto.

Palavras-chave: Caprinos, Superovulação, pFSH, embrião.

Effect of successive superovulatory treatments with pFSH upon the ovulatory response and embryo production of Boer goats and subsequent embryo survival following embryo implantation in recipients of undetermined race

Abstract: This study evaluated the effect of successive superovulatory treatments with pFSH upon the production of embryos in Boer goats. Five pluriparous Boer donators were used. The number of ovulations ranged from 9,8 to 0,8 on the average, with a significant difference observed from the third treatment on, indicating that treatment repetition affects ovulatory response. Ovulation decreased proportionally with the production of embryos. However, the parameters of subsequent stages, such as embryo survival and birth survival, were not significantly associated with treatment repetitions, nor with the morphological characteristics of the retrieved embryos.

Keywords: goats; superovulation, pFSH, embryo.

¹ Mestrando (UECE).

² Mestrando em Zootecnia (UFC).

³ Médico Veterinário autônomo.

⁴ Professor adjunto UECE, Faculdade de Medicina Veterinária (UECE).

Introdução

A técnica de transferência de embriões (TE) vem a ser um instrumento poderoso no tocante a multiplicação de animais de alto valor zootécnico e econômico, usando o material genético da fêmea.

Uma série de fatores pode interferir e alterar os resultados da colheita de embriões, tais como, os equipamentos empregados, o domínio da técnica pelo profissional, a presença de corpos lúteos regredidos, a variação individual dos animais, a raça, o intervalo entre a fecundação da doadora

(inseminação ou monta natural) e a colheita dos embriões e a droga superovulatória utilizada (SCUDAMORE et al., 1991; PINHEIRO, 1993).

A resposta ovariana à administração exógena de gonadotrofina visando a superovulação em ruminantes, tem se mostrado muito variável e até mesmo imprevisível. Esta variabilidade é atribuída a fatores como a idade, a raça, a condição nutricional e sanitária, a droga utilizada, bem como o fabricante, a partida e a dosagem da gonadotrofina utilizada (MAPLETOFT et al., 1991).

Em decorrência da aplicação única e do seu baixo custo relativo, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) tem sido bastante utilizada. No entanto, em caprinos, o hormônio folículo estimulante (FSH), originado das espécies suína, ovina e caprina oferece respostas mais consistentes no tocante a taxas de ovulação e à obtenção de um

maior número de embriões viáveis (TRALDI et al., 1995).

O FSH de origem suína (pFSH), foi utilizado por LIMA (1989); WISCHRAL et al., (1989); PEREIRA et al., (1991) e OLIVEIRA (1992), que obtiveram taxas de ovulação de 9,73; 11,3; 19,2 e 10,0, respectivamente.

É conhecido que o uso repetido de eCG no tratamento de sincronização do estro de cabras resulta em uma diminuição da resposta ao tratamento, traduzida por uma queda na fertilidade (Baril et al 1993).

No que se refere ao uso do pFSH em tratamentos superovulatórios sucessivos em cabras, os dados são raros na literatura e praticamente inexistentes em cabras criadas no Brasil. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a resposta de cabras Boer submetidas a vários tratamentos superovulatórios com pFSH bem como a fertilidade das

receptoras após transferência com os embriões produzidos neste tratamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido pela GP – Genética e Produção de Caprinos e Ovinos LTDA situada no município de Quixadá na região do sertão central do Estado do Ceará, de clima semi-árido tendo como coordenadas geográficas 3° 45' 47" de latitude sul e 38° 31' 23" de longitude oeste, a uma altitude de 191m do nível do mar. O experimento foi realizado durante os anos de 2004 a 2005.

Foram selecionadas 5 fêmeas Boer P.O., cíclicas, nunca tratadas anteriormente com hormônios. As cabras eram pluríparas, com idade variando de 2 a 4 anos, e escore corporal mínimo de 3,0. Os animais foram vermifugados e submetidos a um manejo de estabulação completa durante 30 dias antes de cada colheita. Foi

ofertado um volumoso misto de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), sal mineralizado e água fresca *ad libitum*, além de 600g/cabra/dia de um concentrado comercial contendo 20 % de proteína bruta.

O tratamento superovulatório das doadoras foi realizado por meio de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxi-progesterona -MAP (Promone-e® -Tuco, USA). Para a superovulação, no 9º dia após a colocação das esponjas, iniciou-se a aplicação intramuscular de 250 UI de gonadotrofina à base de extrato de hipófise suína (pFSH) (Pluset® - Serono, Uruguai), divididas em seis doses decrescentes intervaladas a 12 h. No último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal e administrado também 125 µg Cloprostenol sódico (Ciosin® - Coopers, Brasil). A aplicação foi

repetida 12 h depois da primeira aplicação. Os tratamentos eram intervalados de 60 dias.

As inseminações foram realizadas por via transcervical, 12 e 24 horas após detecção de estro, utilizando o sêmen diluído em solução a base de água de coco numa concentração de 200×10^6 espermatozóides por palheta de 0,25 mL. Este sêmen foi obtido de um reprodutor Boer de fertilidade comprovada. A partir das 13:00 h (Dia 18) as doadoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido até o momento da colheita de embriões (Dia 19) pela manhã. Antes de cada colheita cada doadora foi submetida a uma laparoscopia para avaliação ovariana. No momento da colheita, as fêmeas eram contidas em tronco de contenção, onde, foi introduzido espécule para localização, visualização e pinçamento da cérvix para posterior exteriorização. Então uma sonda nasogástrica pediátrica

nº 10 era introduzida intra-uterinamente e acoplada a um circuito fechado ligando o útero ao filtro millipore (filtro millipore® -Nutricel, Brasil) de recuperação. O meio de colheita (PBS) era injetado através da sonda diretamente no útero e recuperado para dentro do filtro. O líquido recuperado era então levado para estereomicroscópio (CX31® -Olympus, Japão) para procura, quantificação, e classificação das estruturas colhidas.

A sincronização de estro das receptoras foi realizada através da introdução de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona-MAP (Promone-e® -Tuco, USA), que foram introduzidas na porção cranial da vagina (Dia 0). No 9º dia após a colocação das esponjas, os animais receberam 400 UI de eCG (Novormon® -Sintex, Argentina) e 75 µg de Cloprostenol sódico (Ciosin® -Coopers, Brasil). No

último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal. A detecção do estro foi realizada (Dias 12 e 13), utilizando um rufião quatro vezes por dia. A partir das 13:00 h (Dia 18) as receptoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido e tricotomizadas previamente na região abdominal, esperando o momento das inovulações (Dia 19).

As receptoras foram contidas em maca em decúbito dorsal para realização da laparoscopia, onde eram feitas observações ovarianas nas quais se buscou a melhor resposta em quantidade e qualidade de corpos lúteos, para então no corno uterino ipsilateral proceder a inovulação dos embriões. Ressaltando que apenas embriões de grau 1 e 2 foram considerados viáveis e inovulados. Decorrido 35 dias das inovulações, as receptoras foram submetidas a exame ultrasonográfico (Ultra Scan 900® - Ami, Canadá) pós

acoplado a um transdutor linear de 5 MHz, na qual era verificada a prenhez, quantificados os embriões e avaliado a sua viabilidade através dos batimentos cardíacos. Os dados foram expressos sob a forma de média e avaliados pelo procedimento GLM do SAS (SAS, 2000) e submetidas à transformação logarítmica, em seguida, as comparações entre as repetições (efeito da repetição do tratamento de superovulação) foram avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3. Resultados e Discussão

O número médio das ovulações medido pela contagem dos corpos lúteos visualizados, variou de 9,8 a 0,8, apresentando uma diferença significativa a partir do terceiro tratamento, mostrando que a repetição do tratamento de superovulação afeta a resposta ovariana, uma vez que o número médio de ovulações diminuiu significativamente a partir da terceira

repetição. Consequentemente o número de estruturas colhidas também foi afetado variando de 7,4 a 0,4 entre a primeira e a quinta repetição respectivamente, com diferença significativa a partir do quarto tratamento. Por outro lado, a taxa de recuperação de estruturas colhidas pouco variou com a repetição, 75% e 50% entre a primeira e a quinta

repetição, o que demonstra uma boa eficiência da técnica de colheita por via transcervical na espécie caprina (**Tabela 1**). Estes resultados são superiores aos obtidos por OLIVEIRA (1992) que obtiveram taxa de recuperação de embriões de 40% e semelhantes ao de FLORES-FOXWORTH et al., (1992) com 78,7% em média.

Tabela 1 - Número médio de ovulações, número total de ovulações, estruturas colhidas e taxa de recuperação de embriões em doadoras Boer tratadas com pFSH por cinco vezes consecutivas.

ORDEM DE COLHEITA	n	Nº de Ovulações (Média)		Nº Total de ovulações (Média)	Estruras Colhidas (Média)	Taxa De Recuperação
		OE	OD			
1	5	5,6 (3-9)	4,2 (1-7)	9,8 (49)	7,4 ^a (1-13)	75,5 (37)
2	5	4,2 (0-8)	3,6 (1-6)	7,8 (39)	5,6 ^{ab} (0-10)	71,8 (28)
3	5	1,6 (0-4)	2,2 (0-5)	3,8 (19)	2,4 ^{bc} (0-6)	63,2 (12)
4	5	1 (0-2)	0,4 (0-2)	1,4 (7)	0,8 ^c (0-2)	57,1 (4)
5	5	0,2 (0-1)	0,6 (0-1)	0,8 (4)	0,4 ^c (0-1)	50,0 (2)

OE (Ovário esquerdo), OD (Ovário direito).

O número entre parênteses representa os valores mínimos e máximos observados para o n° de ovulação e estruturas colhidas, para as demais variáveis, o número entre parênteses representa o número absoluto.

^{a, b, c} – Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).

Na avaliação dos embriões viáveis, aqueles selecionados dentre as estruturas colhidas, foram considerados apenas os embriões que apresentavam os graus I e II. A repetição afetou o número médio de embriões viáveis, contudo quando este resultado é expresso em taxa de embriões viáveis, não se observam variações importantes entre as repetições. Isto significa dizer que os poucos embriões colhidos são de qualidade para serem inovulados e que a repetição do tratamento superovulatório após cinco colheitas consecutivas afeta o número sem influenciar a qualidade dos embriões. A sobrevivência embrionária foi avaliada ao diagnóstico ultrasonográfico de gestação aos 35 dias após inovulação e ao parto. Os resultados mostram que pelo número e as taxas avaliadas as perdas embrionária foram em média acima de 15% desde a colheita até o parto. As taxas de

sobrevivência embrionária variaram de 72,8 a 33,3 e ao parto de 0 a 48,4%, entre a primeira e quinta colheita respectivamente, e estas taxas dependem da qualidade dos embriões inovulados. Por esse motivo é que se observa 50% de sobrevivência embrionária ao diagnóstico na quinta colheita e 72% na primeira, isto é, um só embrião na quinta colheita foi responsável por 50% de dois viáveis que foram inovulados, confirmando ainda mais que a repetição do tratamento de superovulação diminui o número de embriões viáveis, mas não afeta sua qualidade quando inovulados que é avaliado pelas taxas de sobrevivência ao diagnóstico e ao parto (**Tabela 2**). O efeito de tratamentos repetidos em caprinos com substâncias originadas de outras espécies foi primeiramente relatado por Baril et al. (1992), que observaram diminuição da resposta de estro e da fertilidade em

cabras inseminadas depois de repetidos tratamentos com PMSG.

O mesmo efeito sobre o rendimento da inseminação artificial foi ainda relatado por Roy et al (1999). Estes autores estudaram a presença dos anticorpos anti-PMSG em ovelhas quando do uso de tratamentos repetidos com a PMSG. A utilização de substâncias oriundas de outra espécie

como a PMSG e o pFSH induzem o sistema imunológico a produzir anticorpos específicos contra estas moléculas que são consideradas estranhas ao organismo do animal. Estes anticorpos aumentam com a repetição do uso destas substâncias e, por sua vez, reagem com estas diminuindo o seu efeito hormonal.

Tabela 2 - Estruturas viáveis, taxa de embriões viáveis, taxa de sobrevivência embrionária, taxa de sobrevivência ao parto e taxa de perdas embrionárias.

ORDEM DE COLHEITA	N	Embriões Viáveis (Média)	Taxa de Embriões viáveis	Taxa de sobrevivência embrionária	Taxa de sobrevivência ao parto
1	5	6,6 ^a (3-13)	89,2 (33)	72,8 (24)	48,4 (16)
2	5	4,4 ^{ab} (0-9)	78,6 (22)	59,0 (13)	31,8 (7)
3	5	1,8 ^c (0-4)	75,0 (9)	44,4 (4)	33,3 (3)
4	5	0,6 ^c (0-2)	75,0 (3)	33,3 (1)	33,3 (1)
5	5	0,4 ^c (0-1)	100 (2)	50,0 (1)	0 (0)

O número entre parênteses representa os valores mínimos e máximos observados para embriões viáveis, para as demais variáveis, o número entre parênteses representa o número absoluto.

^{a, b, c} - Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).

Na transferência de embriões o pFSH é a substância mais difundida para os tratamentos de superovulação, e o mesmo efeito sobre o rendimento da colheita e taxa de parição tem sido observado após várias repetições, porém pouco se encontra relatos na literatura que avaliem esse efeito com mais precisão.

Portanto, temos pouco a comparar com resultados da literatura. Um dos poucos trabalhos encontrados semelhantes a este foi realizado por Bari et al. (2001), que trabalhando com ovelhas da raça Scottish Blackface não observaram efeito da repetibilidade com o oFSH após oito tratamentos sucessivos, não ocorrendo diminuição no número de embriões colhidos. Isto mostra que o oFSH se constitui uma

alternativa viável para evitar o efeito negativo da repetibilidade com tratamento de superovulação.

4. Conclusão

Conclui-se então que as cabras da raça Boer doadoras de embriões apresentam boa resposta superovulatória até o 3º tratamento consecutivo com pFSH. Além da diminuição da resposta superovulatória ser proporcional à produção de embriões. No entanto, a partir da avaliação morfológica dos embriões colhidos, o efeito da repetição do tratamento superovulatório desaparece e não se encontra diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária e sobrevivência ao parto.

Referências bibliográficas

BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B.; VALLET, J.C.; BECKERS, J.F.; SAUMANDE, J. Comparison of porcine FSH, caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats.

In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 8, 1992. Lyon, France. **Proceedings...** Lyon-France: AETE, v.1, p.126, 1992.

BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. Rome, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Étude FAO Production et Santé Animales, 115, 1993. 183p.

BARI F, KHALID M, WOLF B, HARESIGN W, MURRAY A, MERREL B. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. **Theriogenology**. 2001 Jul 1;56(1):147-55.

FLORES-FOXWORTH, G.; McBRIDE, B. M.; KRAEMER, D. C.; NUTI, L. C. A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. **Theriogenology** 37: 213. (abstract),1992.

LIMA, P. F. **Utilização de gonadotrofina hipofisária e extra hipofisária na superovulação de caprinos**. Recife, 1989. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

MAPLETOFT, R.J.; BO, G.; MURPHY, B.D. The effect of biological activity of gonadotrophins on superovulation in the cow. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, suplemento 3, p.74-92, 1991. Supl.

OLIVEIRA, V.S. **Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (Capra hircus, LINNAEUS,**

1758) utilizadas em transferência de embriões. São Paulo. 1992. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

PEREIRA, R. J. T. A.; LIMA, P. F., SILVA, M. A. V.; WISCHRAL, A.; OLIVEIRA, M. A. L. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal 9. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. p. 314 (abstract), 1991.

PINHEIRO, A.A. de. **Métodos de colheita e de inovulação de embriões caprinos (Capra hircus, LINNAEUS, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras**. São Paulo; USP, 1993. 100p. Tese Mestrado.

ROY F, MAUREL MC, COMBES B, VAIMAN D, CRIBIU EP, LANTIER I, POBEL T, DELETANG F, COMBARNOUS Y, GUILLOU F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. **Biol Reprod**. 1999 Apr;60(4):805-13.

SAS INSTITUTE. [SAS/STAT Software: changes and enhancement through release 8.2. Cary, 2000].

SCUDAMORE, C. L.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P.; KENNEDY, D. J.;

IRELAND, S.; ROBERTSON, I. S.
Laparoscopy for intrauterine insemination
and embryo recovery in superovulated
ewes at a commercial embryo transfer unit.
Theriogenology, v. 35, p. 329-337, 1991.

TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.;
MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P.
Utilização de antiprostaglandínico na
prevenção da regressão prematura de
corpos lúteos em caprinos. In:
CONGRESSO BRASILEIRO DE
REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo
Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte:
Colégio Brasileiro de Reprodução Animal,
1995. p.244.

WISCHRAL, A.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA,
M. A. L.; RIBEIRO, V. M. F.
Transferência de embriões caprinos. **Rev.
Cent. Ci. Rur. Univ. Fed. Sta. Maria**, v.
19, p. 19, 1989. Suplemento.